Набор реагентов для определения фосфолипидов в лейкоцитах

Product Categories: Красители
Product Page:
http://ivdvlmedia.ru/shop/citoximicheskie-issledovaniya/mikroskopiya-citoximicheskie-issledovaniya/krasiteli-mikroskopiya-citoximicheskie-issledovaniya/nabor-reagentov-dlya-opredeleniya-fosfolipidov-v-lejkocitax/

Product Summary

Кат.№КФЛVL ДИАХИМ – ЦИТОСТЕЙН - СЧ
Набор реагентов для выявления фосфолипидов в клеточных элементах (кровь, костный мозг). Используется для диагностики острых лейкозов и служит маркерной реакцией для диагностики мелолейкозов, вместе с реакцией на миелопероксидазу. Количество определений- 12 (от 12 до 24 препаратов). Общее время окраски - 60 мин.

Product Description

Набор реагентов для определения фосфолипидов в лейкоцитах
ДИАХИМ – ЦИТОСТЕЙН - СЧ
Набор реагентов для цитохимического определения фосфолипидов в лейкоцитах с помощью судана черного Б.
Основным компонентом жировых веществ в гемопоэтических клетках являются фосфолипиды (фосфорсодержащие сложные эфиры глицерина). Они являются составной частью структур цитоплазматической сети, пластинчатого комплекса и используются в качестве энергетического и пластинчатого комплекса и используется в качестве энергетического и пластинчатого материала.
Принцип реакции:
Выявление фосфолипидов основано на применении липофильных красителей, растворяющихся и избирательно концентрирующихся во внутриклеточных липидах.
Реагенты:
вошедшие в набор:

спиртовой раствор судана черного Б – 2фл.
спиртовой раствор фенола - 2фл.
бифосфат натрия кристаллический – 6фл.
Набор обеспечивает 6 исследований (от 1 до10 стекол за 1 исследование).
не вошедшие в набор:

40% формалин;
Спирт этиловый 70?.
0,5% раствор красителя Диахим-ГемиСтейн-Р (профессионал)- по Романовскому.
вода дистиллированная.
Оборудование.
-секундомер; -стекла предметные;
-емкость для окраски мазков (Хеллендахела, Коплина, хим. стакан)
- микроскоп; - пробирки хим.;
-пипетки - бумага фильтровальна

-цилиндры мерные вместимостью 25-500мл. - перчатки резиновые

Подготовка к анализу.

Приготовление мазков крови и костного мозга:

2-3 мазка крови (или костного мозга) сделать на предметных стеклах с помощью более узкого предметного шлифованного стекла следующим образом.

На сухое предметное стекло, ближе к короткой стороне наносят пипеткой небольшую каплю крови. Предметное стекло следует держать на столе или в левой руке за узкие края. Правой рукой приставить шлифованное стекло узким краем к стеклу с кровью слева от капли под углом менее 45° и продвинуть его вправо до соприкосновения с каплей крови. Выждать до тех пор, пока кровь расплывется по всему ребру шлифованного стекла, и затем легким быстрым движением провести его справа налево до тех пор, пока не будет исчерпана вся капля. Капля крови должна быть небольшой и соразмерна так, чтобы весь мазок помещался на стекле, не доходя 1 - 1,5 см до его края. Нельзя сильно нажимать на стекло, так как многие клетки крови могут оказаться поврежденными. Хорошо сделанный мазок тонок, имеет желтоватый цвет и оканчивается “метелочкой”.

После приготовления мазки следует быстро высушить на воздухе до исчезновения влажного блеска. При медленном высыхании может изменяться морфология клеток крови

Приготовление препаратов костного мозга аналогично приготовлению препаратов периферической крови.

Приготовление рабочего раствора: Получение буферного раствора :

Растворить навеску фосфата натрия в 25 мл дистиллированной воды.

Отмерить 7,5 мл спиртового раствора фенола. Соединить с 25 мл раствора фосфата натрия. Раствор сохраняет свои свойства в течение 3 месяцев при температуре 0-+4°С.

Рабочий раствор:

К 30мл спиртового раствора судана добавить 20мл буферного раствора.

Ход реакции:

Высушенные на воздухе мазки крови или костного мозга фиксируют в парах формалина во влажной закрытой камере при t 37°- 10 мин.

Быстро ополоснуть.

Просушить фильтровальной бумагой.

Поместить в рабочий красящий раствор на 1 час.

Ополоснуть в 70° этаноле 3 сек.

Быстро промыть проточной водой.

Докрасить 0,5% раствором краски Диахим-ГемиСтейн-Р (профессионал)- по Романовскому 15-20 мин.

Быстро промыть, промокнуть фильтровальной бумагой, высушить.

Примечание:

Цитохимические исследования проводят в мазках крови, костного мозга, лейкоконцентрата, спинномозговой жидкости, аспиратах лимфоузлов, селезенки, лейкозных инфильтратах разной локализации.

Мазки крови и костного мозга лучше делать непосредственно из материала, полученного без добавления антикоагулянтов.

При выраженной лейкопении цитохимические исследования целесообразно проводить в препаратах, полученных из лейкоконцентрата венозной крови.

Приготовленные мазки не рекомендуется хранить более 24часов, т. к. активность большинства внутриклеточных ферментов снижается .

Препараты фиксируют сразу после высушивания на воздухе.

Нефиксированные мазки могут храниться в темноте в течение 3 недель.

Результаты окраски: Нормальные величины:

Большинство нейтрофилов (69-80%) у здоровых людей красятся интенсивно, 18-36% дают окраску средней интенсивности и 10% слабо окрашены.

СЦК в нейтрофилах 2,65-0,033.

Фосфолипиды обнаруживаются в виде коричнево-черных гранул в клетках гранулоцитарного ряда, начиная со стадии миелобласта. Наиболее богаты липидами зрелые гранулоциты, в цитоплазме которых липиды (суданофильный материал) расположена в основном в перинуклеарной зоне. В моноцитах редкие суданофильные гранулы рассеяны по всей цитоплазме.

В эозинофилах суданоположительное вещество локализуется по периферии специфических гранул, с неокрашенной центральной зоной, реакция в базофилах вариабильна.
Лимфоциты и их предшественники реагируют отрицательно. Также отрицательно реагируют тромбоциты и мегакариоциты и эритробласты. Мегакариоциты изредка могут демонстрировать диффузное окрашивание на фоне которого рассеяны очень мелкие суданофильные гранулы в цитоплазме и над ядром.
Изменения при патологических состояниях:
Липиды являются более чувствительным маркером миелоидной дифференцировки. В соответствии с ФАБ-классификацией критериями диагностики острых лейкозов для подтверждения миелоидной природы бластов необходимо выявление 3% и более бластных клеток, положительных по липидам.